Estudio citogenético en dos poblaciones naturales de *Doru lineare* (Dermaptera, Forficulidae)

Andrada A. R., G. M. Silenzi Usandivaras, G. E. Bigliardo, M. Romero, M. Dode

Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, (4000) San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina. E- mail: rubenfml@yahoo.com.ar

➤ **Resumen** — Los insectos del Orden Dermaptera, usualmente llamados tijeretas, se encuentran ampliamente distribuidos en América. Los hábitos alimenticios le permiten asociarse a cultivos económicamente importantes. *Doru lineare* (Eschs.) (Dermaptera, Forficulidae) es un depredador de huevos y estados inmaduros de lepidópteros y hemípteros cicadélidos, plagas de plantaciones de algodón, caña de azúcar y maíz. Los antecedentes citogenéticos del orden son escasos, pero todos ellos confirman la presencia de cromosomas holocinéticos. Los números cromosómicos varían entre 2n = 7, como es el caso de *Arixenia esau* (Arixeniidae), y 2n = 60 presente en *Hemimerus bouvieri* (Hemimeriidae). En este trabajo se expone el complemento cromosómico y el comportamiento meiótico de dos poblaciones naturales de *Doru lineare* de Tucumán (Argentina). El número cromosómico diploide del macho es 20 (2n = 18 + XY), los cromosomas carecen de constricción primaria (holocinéticos) y exhiben un comportamiento regular durante la división meiótica (meiosis pre-reduccional). Los cromosomas no homólogos pueden establecer asociaciones no quiasmáticas entre ellos durante el curso de la meiosis. Se destacó que un ejemplar de una población exhibió serias irregularidades de la mitosis y meiosis espermatogonial. Las anomalías detectadas en un individuo sugieren la incidencia de factores externos.

Palabras clave: Tijeretas, complemento cromosómico, cromosomas holocinéticos.

➤ **Abstract** — Insects of the order Dermaptera, usually called earwigs, are widely distributed in America. Their feeding habits allow them to be associated with economically important crops. *Doru lineare* (Eschs.) is a predator of eggs and immature stages of many Lepidoptera and leafhoppers (Hemiptera), pests of cotton, sugar cane and corn plantations. Previous cytogenetic studies of the order are scarce, but they confirm the presence of holokinetic chromosomes. The chromosome numbers vary from 2n = 7 (*Arixenia esau*) to 2n = 60 (*Hemimerus bouvieri*). In this paper the chromosome complement and the meiotic behavior in two natural populations of *Doru lineare* from Tucumán (The Argentine Republic) are exposed. The male diploid chromosome number is 20 (2n = 18 + XY), the chromosomes lack a primary constriction (holokinetic) and they show a regular behavior during meiotic division (prereductional meiosis). Non-homologous chromosomes can establish non-chiasmatic associations between them during the course of meiosis. The fact that, a single individual from one of the populations exhibited serious irregularities in spermatogonial mitosis and meiosis, was emphasized.

Keywords: Earwigs, chromosome complement, holokinetic chromosomes.

INTRODUCCIÓN

Los dermápteros, conocidos vulgarmente como «tijeretas», son insectos cosmopolitas de hábitos omnívoros. Entre los forficúlidos, algunas especies son importantes en los sistemas agroecológicos por ser beneficiosas como controladores biológicos de plagas al actuar como depredadores; sin embargo, en ocasiones son perjudiciales causando daños en los cultivos en su rol de insecto fitófago. (Brindle y Quintero Arias, 1992; Mariani, 1996, 1998; Romero Sueldo y Virla, 2005, 2009; Romero Sueldo *et al.*, 2005, 2010).

Doru lineare (Eschs.) de la familia *Forficulidae*, se distribuye en América, desde el sur de los Estados Unidos hasta Argentina, y habita en las provincias de Jujuy, Salta, Tu-

Recibido: 08/10/15 – Aceptado: 13/04/16

cumán, Santiago del Estero, Córdoba, Santa Fe, Formosa, Chaco, Corrientes y Entre Ríos (Hincks, 1949; Reichardt, 1971; Mariani *et al.*, 1996; Mariani, 1998, Romero Sueldo y Virla 2009; Romero Sueldo, 2012). En América del Sur se encuentra en Colombia, Brasil, Bolivia y Paraguay (Lanza Reis *et al.*, 1988). *Doru lineare* es un eficiente depredador en cultivos de maíz (*Zea mays* L.), *caña de azúcar (Saccharum officinarum L.), algodón (Gossypium hisutum L.) entre otros* (Soussa Silva *et al.*, 1992; Otero y Belarmino, 1993; Romero Sueldo, 2012).

En Tucumán, esta especie es frecuente en cultivares de maíz y en las comunidades espontáneas de gramíneas asociadas a dicho cultivo, compuestas mayormente por «pasto Guinea» [*Panicum maximum* (Jacquin)] y «sorgo de Alepo» [*Sorghum halepense* (L) Persson] (Romero Sueldo *et al.*, 2012). En plantas de maíz representa un importante depredador de huevos de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) y hemípteros auquenorrincos como *Dalbulus maidis* (De Long y Wolcott) y *Tapajosa rubromarginata* (Signoret) (Mariani *et al.*, 1996).

Los antecedentes del orden han determinado los números cromosómicos extremos 2n = 7 en *Arixenia esau* (Arixeniidae) *y* 2n = 60 para *Hemimerus bouvieri* (Hemimeriidae) (White, 1971, 1972; Mittal y Suri, 1981). Los cromosomas carecen de constricción primaria, sin centrómero localizado, por lo que reciben el nombre de holocinéticos. Otros insectos con iguales características cromosómicas se han descripto en Odonata, Zoraptera, Phithiraptera, Psocoptera, Lepidoptera, Tricoptera, y Hemiptera (Mola *et al.,* 2011).

El sistema sexual característico de Dermaptera es XX:XY (♀/♂). Sin embargo, existen antecedentes de especies con sistemas múltiples de determinación del sexo y ausencia de cromosoma «Y». Así los machos se identifican sexualmente como X_1X_2 Y, X_1X_2 X_3 Y, X_1X_2 X_3 X_4Y y XO (Misra, 1937; White, 1972).

En este trabajo se describe el cariotipo y comportamiento de los cromosomas durante la meiosis en dos poblaciones de *D. lineare*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ejemplares adultos de *D. lineare* utilizados en este estudio fueron recolectados en poblaciones naturales, de plantaciones de maíz en las localidades de El Cadillal (Dpto. Tafi Viejo, Tucumán, 26°40'48" S, 65°16'00" W) y en El Manantial (Dpto. Lules, Tucumán, 26º49'50" S, 65º16'59" W). Los testículos de 40 machos adultos de la población de El Cadillal y 30 de El Manantial, extraídos por disección de entre el 6º y 9º segmento abdominal, fueron fijados en Farmer (alcohol etílico – ácido acético 3:1) en el punto de captura. En laboratorio la conservación se efectúa en alcohol 70% hasta su uso. Las gónadas utilizadas para las preparaciones microscópicas transitorias fueron hidrolizadas durante 3 min en HCl 1N a 60°C y luego lavadas con agua destilada. La tinción y montaje se realizaron con hematoxilina propiónica 2%.

Los folículos testiculares utilizados para la tinción con DAPI fueron aplastados («squash») en una gota de ácido acético 45%. Los cubreobjetos se removieron por congelamiento y las preparaciones se dejaron secar a temperatura ambiente (25ºC) durante tres días. La técnica de tinción con DAPI empleada fue la propuesta por Schweizer (1976). Las imágenes de las observaciones se capturaron con una cámara Olympus Q-Color 5 conectada a un microscopio Olympus BX43.

RESULTADOS

Los adultos machos de ambas poblaciones exhibieron cromosomas holocinéticos u holocéntricos y complemento diploide 2n = 20 (Fig. 1) por lo que el número cromosómico haploide es n = 10. En Profase I se observaron los cromosomas autosómicos con diferentes grados de compactación, los bivalentes presentaron el característico ciclo de alociclia, con débil tinción de cromosomas autosómicos y heteropicnosis positiva de los cromosomas sexuales durante las primeras etapas de la primera división meiótica (Fig. 2). En diacinesis se observaron 10 bi-

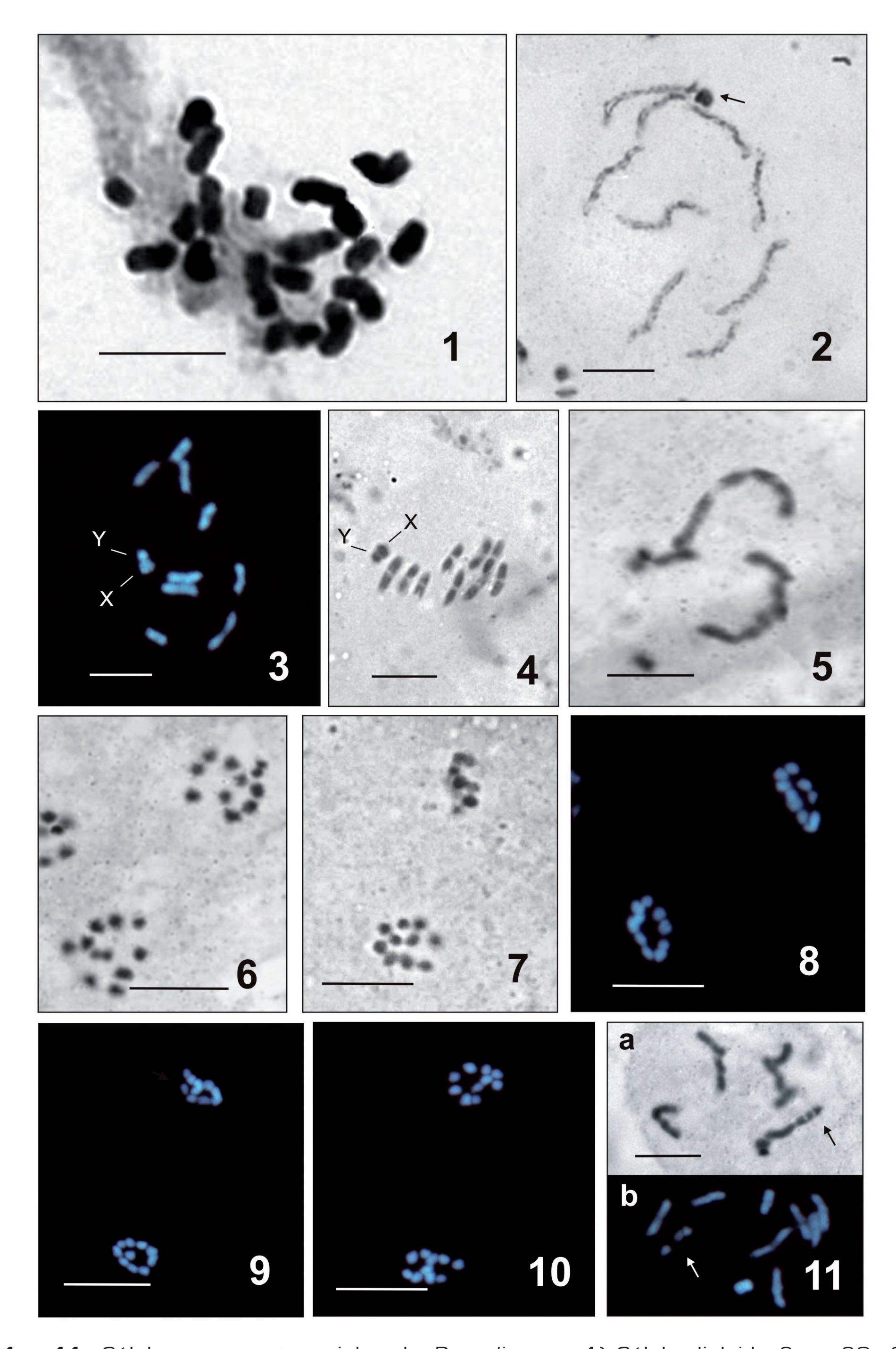


Fig. 1 a 11. Células espermatogoniales de *Doru lineare*. 1) Célula diploide 2n = 20. 2) Diplotene: fuerte heteropicnosis positiva de los cromosomas sexuales durante profase (flecha). 3) Tinción con DAPI de Diacinesis n = 10, par sexual heteromórfico. 4) Complemento haploide en MI. 5) Asociaciones secundarias en Profase I. 6) Asociaciones secundarias en divisiones II. 7) Metafase II. 8 a 10) TI en distintas configuraciones. 11) Cromosoma autosómico con aparente segmentación (flecha); a) Tinción con hematoxilina propiónica, b) Tinción con DAPI. Escala = 5 µm.

valentes y su mecanismo de determinación del sexo es del tipo XX:XY (♀/♂) con cromosomas sexuales heteromórficos, donde el X es de mayor tamaño que el Y (Fig. 3). La división I fue reduccional con autosomas holocinéticos con evidente actividad telocinética (Fig. 4).

El estudio de la meiosis reveló en ambas poblaciones asociaciones de bivalentes a través de los telómeros y en ocasiones estas conexiones se establecieron con segmentos cromosómicos intersticiales. Las asociaciones teloméricas de cromosomas no homólogos que involucran 3, 4 o 5 bivalentes fueron inestables, no quiasmáticas (Fig. 5). Debido a estas asociaciones los bivalentes adoptaron configuraciones muy particulares durante la segunda división meiótica (Fig. 6). Los espermatocitos en la meiosis II (MII) exhibieron esporádicamente falta de co-orientación entre sus placas (Fig. 7). En las metafase I y II cuando los bivalentes o los cromosomas, según fuere el caso, se dispusieron en anillo donde el pseudobivalente sexual o cromosoma sexual se ubica en el centro de la configuración radial.

La coloración con DAPI ha revelado tinción uniforme en el complemento cromosómico de ambas poblaciones.

A continuación se describe el comportamiento de los cromosomas durante la meiosis de cada población.

Población de El Manantial

En esta población en Anafase I (AI) los bivalentes mostraron varias configuraciones durante la segregación, con los diez, nueve u ocho bivalentes en anillo y sin bivalente central o uno o dos, según el número de bivalentes comprometidos en la disposición radial (Figs. 8-10). Asimismo fueron observados cromosomas rezagadas en esta etapa de la división meiótica.

Población de El Cadillal

La población mostró durante la diacinesis un cromosoma autosómico con evidente fragmentación que generó un elemento con aspecto tripartito, de tamaño 1,7 a 3,6 μm, que se presentó en el 42% de los casos (Fig. 11). En AI mostró configuraciones en anillo idénticas a las exhibidas en la Fig. 9 para la población de El Manantial.

La meiosis y mitosis en la gónada de un individuo de esta población mostraron irregularidades relacionadas con evidentes diferencias en la morfología citológica, número y comportamiento de los cromosomas durante la división. Se observaron células de diferentes tamaños, diploides y poliploides en una misma gónada (Fig. 12). La poliploidía representada por células tetraploides 2n = 4x = 40 se pone de manifiesto en la Fig. 13. Este mosaico celular exhibió alteraciones de la división mitótica tal como cromosomas rezagados y puentes cromatínicos entre ambos grupos cromosómicos (Fig. 14). Es evidente asimismo el número de puentes en la célula poliploide (Fig.15). El tamaño de los cromosomas también se destaca en esta gónada anómala (Fig. 16).

Las células meióticas presentaron diacinesis con diferentes números cromosómicos en las que fue usual encontrar las asociaciones de tres o cuatro cromosomas mostrando diferentes configuraciones (Figs. 17 y 18). También las irregularidades del número cromosómico se pusieron en evidencia en el 90% de las MI (Fig. 19). Las alteraciones de la primera división meiótica en anafase permitieron la observación de puentes y cromosomas rezagados. Las divisiones II también fueron anómalas con anafase donde fueron frecuentes, los cromosomas rezagados como los puentes que unen los polos nucleares hermanos y puentes cruzados. La arquitectura de los puentes de cromatina en esta etapa presentó distintas configuraciones (Fig. 20).

Los núcleos resultantes en esta gónada presentaron diferentes tamaños, entre las células regulares se disponían otras con micro y macronúcleos intensamente teñidos (Fig. 21).

DISCUSIÓN

Entre los insectos, Dermaptera es un orden citogenéticamente muy poco estudiado y sus números cromosómicos varían de 2n = 7 (Arixeniidae) hasta 2n = 60 (Hemimeridae)

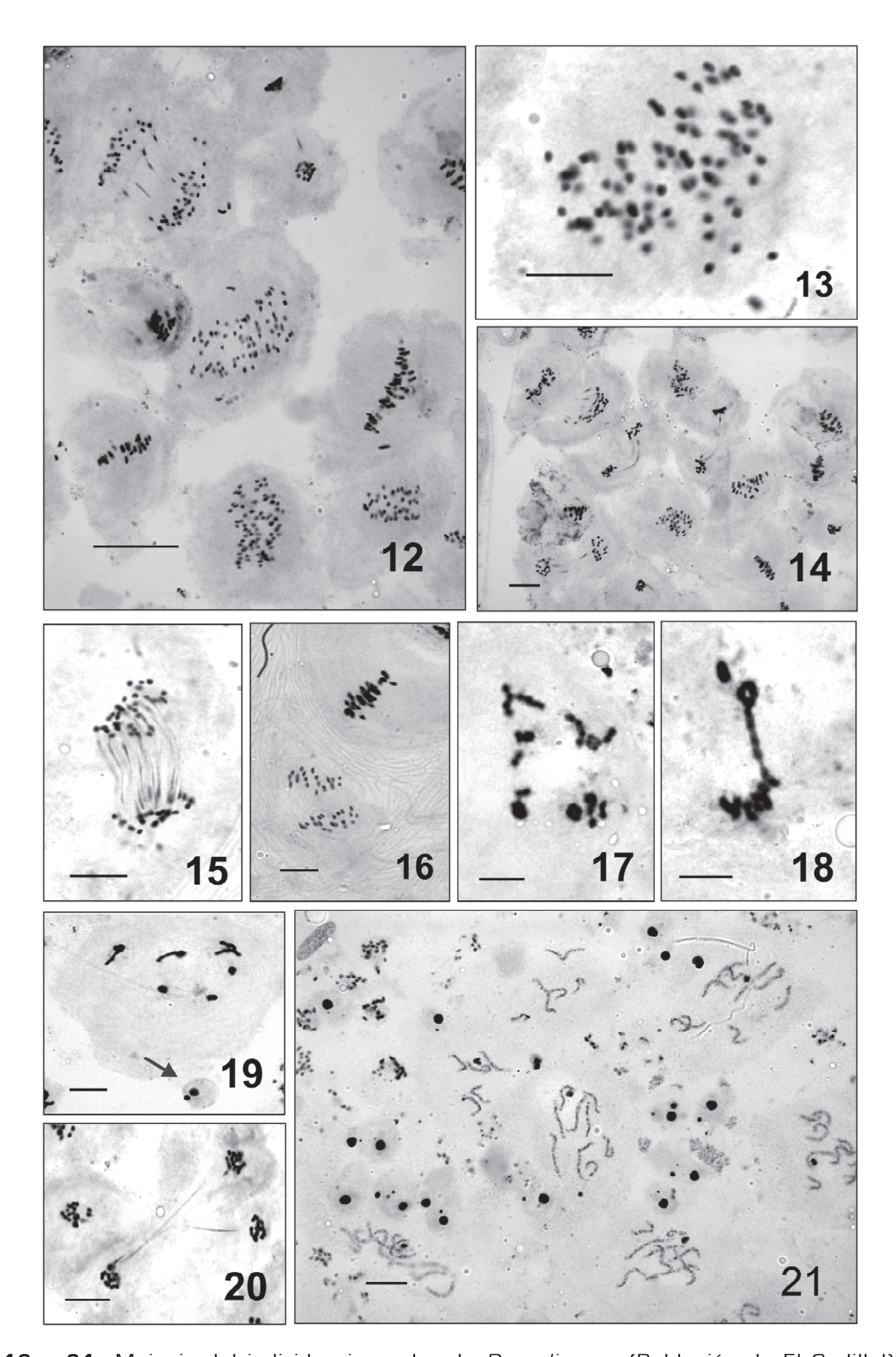


Fig. 12 a 21. Meiosis del individuo irregular de *Doru lineare* (Población de El Cadillal). 12) Células diploides y poliploides. 13) Célula tetraploide. 14) Divisiones irregulares con cromosomas rezagados y puentes de cromatina. 15) Célula poliploide con numerosos puentes. 16) Nótese la diferencia de tamaño de los cromosomas en meiosis I. 17 y 18) Asociaciones de cromosomas en metafases irregulares. 19) MI irregular n = 8 junto a célula apoptótica (flecha). 20) TII con puentes cruzados formando una Y. 21) Células apoptóticas con núcleos de diferentes tamaños. Figs. 12, 14 y 21 escala = 10 µm; Figs. 13 y 15-20 escala = 5 µm.

(Jarvis *et al.,* 2004). La mayor parte de los antecedentes están relacionados con la morfología holocinética de los cromosomas, determinada por la ausencia de constricción primaria (Giles y Webb, 1972; White, 1972; Mittal y Suri, 1981; Avancini *et al*., 2000; Gavrilov, 2007; Melters *et al*., 2012). Esta característica está representada en Artrópodos, tanto en arácnidos (Buthidae, Dysderoidea, Astigmata) como en insectos (Odonata, Zoraptera, Phthiraptera, Psocoptera, Lepidoptera, Trichoptera, Hemiptera y Dermaptera). En plantas, entre las monocotiledóneas Juncaceae y Cyperaceae, también se describe este tipo de cromosomas (Mola *et al*., 2011).

Los resultados del presente estudio confirman la naturaleza holocinética de los cromosomas de machos de *D. lineare*. Asimismo el complemento cromosómico diploide del macho es 2n = 20 (18 + XY). La determinación del sexo de la fórmula cariotípica se correlaciona con el sistema predominante en Dermaptera XX:XY.

La meiosis es pre-reduccional, regular con excepción de un ejemplar que ha puesto en evidencia profundas irregularidades relacionadas con el tamaño de las células, número cromosómico, y comportamiento de ellos durante las divisiones espermatogoniales. La observación realizada en el ejemplar de la población de El Cadillal podría relacionarse con fallas de los mecanismos responsables del control de la división celular. Como consecuencia se genera un desequilibrio cromosómico, divisiones desbalanceadas, con signos evidentes de fallida segregación de los cromosomas (no disyunción) en algunas células. Surgen así en la gónada, células aberrantes, endopoliploides, donde la replicación ha ocurrido pero fallas durante la citocinesis impidieron la formación de las células hijas normales. Se destaca que Callan (1949) describió en *Forficula auricularia* L., «islas» de células meióticas poliploides las cuales fueron justificadas como fallas en la anafase de las células espermatogoniales, durante la primera división meiótica.

La observación de cromosomas con ligeras estrangulaciones conformando una morfología tripartita durante la profase meiótica sugiere la presencia de cromatina no revelada por los métodos convencionales.

Los núcleos de diferentes tamaños se generarían como consecuencia de irregularidades en la división, similares a las detectadas en el ejemplar de la población de El Cadillal. No siempre hay núcleos anómalos originados por esta causa, dado que pueden presentarse y no estar relacionados con fallas de la división meiótica.

En ambas poblaciones se revelan las asociaciones de bivalentes o cadenas de bivalentes en la primera división meiótica o de cromosomas en la segunda division. Las asociaciones fueron descriptas en plantas y animales, pero en todas ellas, estaban comprometidas las divisiones I y no en cromosomas de la segunda división como en *D. lineare*. (White, 1973; John y King, 1985). Kuznetsova *et al*. (2013) señalaron que en estas asociaciones no específicas, no quiasmáticas entre cromosomas no homólogos, hay segmentos heterocromáticos que se atraen y como consecuencia se establece la adhesión entre ellos. No obstante, en el presente estudio no fue posible comprobar esto.

Actualmente, no se conocen antecedentes citogenéticos del Orden Dermaptera en nuestra región, de hecho estos resultados representan el primer aporte al conocimiento del taxón en el Noroeste Argentino.

LITERATURA CITADA

Avancini R. M. P., Recco-Pimentel S. M., Prado A. 2000. *Labidura riparia* (Dermaptera, Labiduridae) from Brazil: Karyotype and C- banding. Cytologia, 65: 93-96.

Brindle A., Quintero Arias D. 1992. Earwigs of Panama. In: Insects of Panama and Mesoamerica. Selected Studies. D. Quintero Arias and A. Aiello (Eds). Oxford: Oxford University Press, 692 pp.

Callan H. G. 1949. Chiasma interference in diploid, tetraploid and interchance spermatocytes of earwing, *Forficula auricularia.* Journal of Genetics, 49: 209-213.

Gavrilov I. A. 2007. A catalogue of chromosomal numbers and genetic systems of scale insects (Homoptera: Coccinea) of the world. Israel Journal of Entomology, 37: 1-53.

Giles E. T., Webb G. C. 1972. The Systematics and karyotype of *Labidura truncata* Kirby, 1903 (Der-

maptera: Labiduridae). Australian Journal of Entomology, 11: 253-256.

Hincks W. 1949. The earwigs (Dermaptera) of Argentina. Acta Zoológica Lilloana, 7: 623-652.

Jarvis K.J., Haas F., Whiting M. F. 2004. A phylogeny of earwigs (Insecta: Dermaptera) based on molecular and morphological evidence: reconsidering the classification of Dermaptera. Systematic Entomology, 30: 1-12.

John B., King M. 1985. Pseudoterminalisation, terminalisation and non-chiasmate modes of terminal association. Chromosoma, 92: 89-99.

Kuznetsova V. G., Golup N., Aguin Pombo D. 2013. Karyotypes, B-chromosomes and meiotic abnormalities in 13 populations of *Alebra albostriella* and *A. wahlbergi* (Hemiptera, Auchenorrhyncha, Cicadellidae) from Greece. Comparative Cytogenetics, 7: 305-325.

Lanza Reis L., Oliveria J. Cruz I. 1988. Biologia e Potencial de *Doru luteipes* no controle de *Spodontera frugiperda*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 23: 333-342.

Mariani R. 1996. Catálogo de insectos fitófagos argentinos (Dermaptera). XX International Congress of Entomology, Proceedings Taxonomy of the Dermaptera, Firenze (Italia), 386 pp.

Mariani R. 1998. Dermaptera. En: J. J. Morrone y S. Coscarón (eds.), Biodiversidad de Artrópodos Argentinos, Una Perspectiva Biotaxonómica, Ediciones Sur, La Plata, Argentina, pp. 35-47.

Mariani R., Vera L., Virla E. 1996. Aportes al conocimiento de *Doru lineare* (Eschs., 1822) (Dermaptera, Forficulidae), un insecto de importancia agronómica en el Noroeste Argentino. CIRPON. Revista de Investigacion, 10: 13-18.

Melters D. P., Paulius L. V., Korf I. F y Chan S. W. L. 2012. Holocentric chorosomes: convergent evolution, meiotic adaptations, and genomic analysis. Chromosome Research, 20: 579-593.

Misra A. B. 1937. The chromosomes of a earwing, *Forficula scudderi*. The Japanese Journal of Genetics, 13: 3-4.

Mittal O. P., Suri V. 1981. Chromosome studies in two species of earwings (Dermaptera: Diplatyidae) from India. Caryologia, 34: 441-446.

Mola L. M., Rebagliati P. J., Rodriguez Gil S. G., Adilardi R. S. 2011. Variaciones meioticas y evolución cromosómica en insectos y arácnidos con cromosomas holocinéticos. Journal of Basic and Applied Genetics, 22: 1-6.

Otero R., Belarmino L. 1993. Entomofauna de soja em coexistencia com plantas daninhas: V, Pico preto, Bidens pilosa (Compositae). Anais do XIV Congresso Brasileiro de Entomologia, Piracicaba, 140 pp.

Reichardt H. 1971. Catologue of new world Dermaptera Forficuloidea. Papeis. Avulsos do Zoologia, 24: 161-184.

Romero Sueldo G. M. 2012. Evaluación de *Doru lineare (*Dermaptera, Forficulidae) como depredador de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae. Editorial Académica Española, Saarbrücken, Alemania, 1-75.

Romero Sueldo M., Virla E. 2005. Forage preference of *Doru lineare* (Eschs.) (Dermaptera: Forficulidae) under laboratory conditions. Revista de la Sociedad de Entomología Argentina, 64: 430-431.

Romero Sueldo M., Virla E. G. 2009. *Doru lineare* (Dermaptera: Forficulidae), insecto benéfico en cultivos de maíz del norte argentino: preferencias alimenticias y tasas de consumo. Boletín de Sanidad Vegetal - Plagas, 35: 39-47.

Romero Sueldo M., Benitez de Parra L., Torres de la Plaza M. I. 2005. Duracion y supervivencia de los estadios ninfales de *Doru Lineare* (Dermáptera: Forficulidae) sometidos a diferentes dietas. Acta Zoológica Lilloana, 49: 59-63.

Romero Sueldo M., Bruzzone O. A., Virla E. G. 2010. Characterization of *Doru lineare* (Eschscholtz) (Dermaptera – Forficulidae) as predator of fall-armyworm larvae (Lep. – Noctuidae): a functional response study. Journal of Insect Science, 10: 1536-2442.

Romero Sueldo M., Dode M., Virla E. 2012. Consumption rates of *Rhopalosiphum maidis* (Homoptera: Aphididae) by *Doru lineare* and *Doru luteipes* (Dermaptera: Forficulidae). Biocell, 17: A-46 (4).

Schweizer D. 1976. Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI. Chromosoma, 58: 307-324.

Soussa Silva C., Sgrillo R., Pacheco A. J. 1992. Uso do P-32 no estudo de de depredadores *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae). *Anais da Sociedade Entomológica do* Brasil, 21: 133-138.

White M. J. 1971. The Cromosomes of *Hemimerus bouvieri* Chopard (Dermaptera). Chromosoma, 34: 183-189.

White M. J. 1972. The Cromosomes of *Arixenia essau* Jordan (Dermaptera). Chromosoma, 36: 338-342.

White M. J. D. 1973. Animal Cytology and Evolution. (3rd. ed.). Cambridge University Press, Cambridge, 961 pp.